

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 18/05/2019.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA

Camila Sena Martins de Souza

DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO CLONAL E  
VIRULÊNCIA DE *Staphylococcus aureus*  
ISOLADOS DE PACIENTES VIVENDO COM  
HIV/AIDS E SEUS FAMILIARES

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Adj. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Coorientador: Prof. Adj. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu

2018

Camila Sena Martins de Souza

DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO CLONAL E  
VIRULÊNCIA DE *Staphylococcus aureus* ISOLADOS  
DE PACIENTES VIVENDO COM HIV/AIDS E SEUS  
FAMILIARES

Tese apresentada à Faculdade de  
Medicina, Universidade Estadual  
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,  
Campus de Botucatu, para obtenção  
do título de Doutora em Doenças  
Tropicais.

Orientadora: Profa. Adj. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Coorientador: Prof. Adj. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza

Botucatu  
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Souza, Camila Sena Martins de.

Determinação da relação clonal e virulência de  
*Staphylococcus aureus* isolados de pacientes vivendo com  
HIV/aids e seus familiares / Camila Sena Martins de Souza.  
- Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio  
de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu  
Orientador: Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha  
Coorientador: Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza  
Capes: 21201021

1. *Staphylococcus aureus*. 2. Fatores de virulência. 3.  
AIDS (Doença). 4. HIV (Vírus). 5. Eletroforese em campo  
pulsado.

Palavras-chave: MLST; PFGE; *Staphylococcus aureus*; fatores  
de virulência; pessoa vivendo com HIV/aids.

**Camila Sena Martins de Souza**

Determinação da relação clonal e virulência de *Staphylococcus aureus* isolados de pacientes vivendo com HIV/aids e seus familiares

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,

Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Doenças Tropicais

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Adj. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha

Comissão examinadora

---

Prof<sup>a</sup>. Adj. Lenice do Rosário de Souza

Faculdade de Medicina de Botucatu

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Adriana Gonçalves de Oliveira

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

---

Prof. Titular Eduardo Bagagli

Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita ilho

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Valéria Pereira Catanelli

Universidade do Oeste Paulista

Botucatu, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

*Aos meus pais, Cicero Martins de Souza e Veronica Sena Barbosa Souza*

*Obrigada por não medirem esforços em todos os momentos  
e tornarem possível a realização de mais um sonho.*

*Dedico a vocês todas as minhas conquistas.*

*A Luiz Domingues de Almeida Júnior*

*Obrigada por ser meu porto seguro, meu apoio e por seu companheirismo  
durante este longo período, sem você tudo seria mais difícil.*

*A Deus pelas oportunidades de crescimento concedidas a cada dia e por ser a luz que me guia quando parece não haver saída.*

*Ao meu querido irmão, Raphael Sena Martins de Souza, pelo carinho e torcida constante em todos os meus objetivos de vida.*

*A querida Prof. Adj. Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha por ser a primeira a me abrir as portas há dez anos acreditando no meu trabalho, por ser a responsável pela minha formação acadêmica e simplesmente por entender minhas decisões e ausências durante o período que realizei outra graduação. Simples palavras não são capazes de expressar tamanha gratidão por me permitir chegar até aqui. Meu eterno carinho e agradecimento.*

*Ao Prof. Adj. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza pela ideia inicial do projeto.*

*Ao Prof. Dr. Cassiano Victória pela atenção e análises de georreferenciamento.*

*A banca de qualificação, Lenice do Rosário de Souza e Ary Fernandes Júnior, pela valiosa contribuição para o trabalho.*

*A Letícia Chamma Lastoria por todo o companheirismo e convivência agradável durante este período. Este trabalho não seria possível sem a sua dedicação. Meu eterno agradecimento.*

*A Thais Alves Barbosa por tornar os dias difíceis mais fáceis, pelo sorriso no momento de tristeza, pelo abraço que trouxe conforto, por compartilhar das minhas conquistas e por simplesmente me oferecer sua pura e verdadeira amizade. “Amigos nos tornam seres mais felizes pelo simples fato de existirem e serem nossos amigos”.*

*A Nathalia Bibiana Teixeira, por inúmeras vezes me ajudar no final desta etapa. Muito obrigada, minha querida amiga.*

*A querida amiga, Mônica da Silveira, por seu constante apoio em todos os momentos desta caminhada.*

*Agradeço de forma muito carinhosa a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Teruê Sadatsume por deixar de ser somente professora e se tornar uma amiga. Muito obrigada pela torcida, carinho e alegria transmitida durante os últimos dez anos de convivência. Carinho, admiração e gratidão resumem o que sinto.*

*Aos queridos funcionários do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências de Botucatu, em especial Luiz dos Santos, Larissa Ragozo e Ana Claudia Acerra pela ajuda em todos os momentos e carinhosa amizade construída no decorrer desses anos.*

*A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio disponibilizado, essencial para a realização deste trabalho.*

*Gostaria de expressar meu reconhecimento a todos que de diversas maneiras contribuíram não apenas para a realização deste trabalho, mas também por participarem desta conquista. Na impossibilidade de nomear cada um, deixo meu agradecimento pela contribuição e que de alguma maneira encontrem aqui minha expressão de amizade e reconhecimento.*



*O êxito começa no exato momento  
em que o homem decide o que quer e  
começa a trabalhar para consegui-lo.*

*Roberto Flávio C Silva*

## RESUMO

Indivíduos colonizados podem contribuir para disseminação de *Staphylococcus aureus*, que se destaca por sua patogenicidade e alta frequência, capaz de produzir doenças tanto em indivíduos sadios quanto em imunocomprometidos, sendo esse risco aumentado na imunodeficiência humana (HIV/aids). Esse estudo teve como objetivos determinar a relação clonal de MRSA (*Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina) e MSSA (*Staphylococcus aureus* Sensível à Meticilina) entre as cepas isoladas de pessoas vivendo com HIV/aids (PVHA) e seus contactantes domiciliares, e os fatores de virulência que podem contribuir para o carreamento desses micro-organismos. *S. aureus* foram isolados da nasofaringe e orofaringe de 368 PVHA do Serviço de Ambulatórios Especializados de Infectologia “Domingos Alves Meira” (SAE/DAM) do complexo da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) e Fundação para o Desenvolvimento Médico Hospitalar (FAMESP), sendo 112 residentes em Botucatu e 256 provenientes de cidades da região. A técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foi utilizada para detecção do gene *mecA*, genes das enterotoxinas (*sea*, *seb*, e *sec-1*), esfoliatinas A e B (*eta* e *etb*), toxina 1 da síndrome do choque tóxico (*tst*), leucocidina Panton–Valentine (*lukS-PV* e *lukF-PV*), hemolisinas alfa e delta (*hla* and *hld*) e biofilme (*icaA* e *icaD*) e para tipagem do SCC*mec*. Para a tipagem molecular foi utilizado a técnica de *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE), *Multilocus Sequence Typing* (MLST) e *spa Typing*. Os pacientes residentes em Botucatu foram convidados a mais duas coletas com inclusão dos contactantes domiciliares, totalizando 73 contactantes. Além disso, foi realizado o georreferenciamento dos domicílios no momento da coleta da área urbana de Botucatu. A prevalência de colonização por *S. aureus* na primeira coleta foi de 26%, com dez indivíduos colonizados com MRSA, com a taxa de prevalência de 2,7%. Na segunda coleta a prevalência foi de 23,8%, com a presença de três isolados de MRSA, já entre os contactantes domiciliares foi de 30%, com a identificação de quatro MRSA. E por fim, terceira e última coleta a prevalência encontrada foi de 25,3% com dois MRSA. Do total de 178 isolados de *S. aureus*, 19 (10,6%) eram carreadores do gene *mecA*, dentre esses, quatro eram provenientes de contactantes domiciliares, com prevalência do SCC*mec* Tipo IV. A identificação do perfil clonal através da análise por PFGE evidenciou a presença de 2 *clusters* majoritários entre os MRSA e 10 *clusters* entre os isolados sensíveis, demonstrando possíveis transmissões no ambiente familiar. Quando realizada análise pelo MSLT identificou-se a presença de um mesmo clone em cidades

distintas sugerindo ampla disseminação do clone no Estado de São Paulo. Encontramos *S. aureus* isolados dos pacientes bem distribuídos em toda a cidade de Botucatu, no entanto, os isolados MRSA não foram encontrados na região central da cidade. Além disso, os resultados demonstraram uma prevalência significativa de genes de virulência nos isolados, com destaque para genes das hemolisinas e genes para produção de biofilme. Em relação ao georreferenciamento, observamos uma distribuição de *S. aureus* em toda a cidade de Botucatu, porém, a prevalência maior de MRSA encontra-se na região norte da cidade. A análise do perfil clonal leva a maiores discussões sobre o processo de evolução da bactéria, sugerindo uma provável origem comum entre as cepas de diferentes cidades.

**Palavras-chave:** *Staphylococcus aureus*, fatores de virulência, pessoa vivendo com HIV/aids, PFGE, MLST.

## ABSTRACT

Colonized individuals may contribute to the dissemination of *Staphylococcus aureus*, which stands out for its pathogenicity and high frequency, capable of producing diseases in both healthy and immunocompromised individuals, with an increased risk of human immunodeficiency (HIV/AIDS). This study aimed to determine the clonal relationship between MRSA (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*) and MSSA (Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus*) between strains isolated from people living with HIV/aids (PLHA) and their home contacts, and virulence factors which may contribute to the transport of these microorganisms. *S. aureus* were isolated from the nasopharynx and oropharynx of 368 PLHA from the Specialized Outpatient Services “Domingos Alves Meira” (SAE/DAM) of the Botucatu Medical School (FMB) and Hospital Medical Development Foundation (FAMESP), of which 112 were residents in Botucatu and 256 from cities in the region. The PCR (Polymerase Chain Reaction) technique was used to detect the *mecA* gene, enterotoxin genes (*sea*, *seb*, and *sec-1*), esfoliatins A and B (*eta* and *etb*), toxic shock syndrome toxin 1 (*tst*), Panton-Valentine leukocidin (*lukS-PV* and *lukF-PV*), alpha and delta hemolysins (*hla* and *hld*) and biofilm (*icaA* and *icaD*) and for typing SCC*mec*. For molecular typing were used techniques of the Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), Multilocus Sequence Typing (MLST) and spa Typing. The patients residing in Botucatu were invited to more two collections with the inclusion of the home contacts, totaling 73 home contacts. In addition, the georeferencing of households was carried out at the time of collection of the urban area of Botucatu. The prevalence of *S. aureus* colonization in the first collection was 26%, with ten individuals colonized with MRSA, with a prevalence rate of 2.7%. In the second collection the prevalence was 23.8%, with the presence of three MRSA isolates; among the home contacts, 30% were identified, with the identification of four MRSA. Finally, the third and final collection was found to be 25.3% with two MRSA. Of the total of 178 *S. aureus* isolates, 19 (10.6%) were carriers of the *mecA* gene, of which four were from home contacts, with prevalence of SCC*mec* Type IV. The identification of the clonal profile through PFGE analysis evidenced the presence of two major clusters between MRSA and 10 clusters among the sensitive isolates, demonstrating possible transmissions in the family environment. When MSLT analysis was performed, the presence of a same clone was identified in distinct cities, suggesting a wide dissemination of the clone in the State of São Paulo. We found *S. aureus* isolated

from patients well distributed throughout the city of Botucatu, however, MRSA isolates were not found in the central region of the city. In addition, the results demonstrated a significant prevalence of virulence genes in the isolates, with emphasis on hemolysin genes and genes for biofilm production. Regarding georeferencing, we observed a distribution of *S. aureus* throughout the city of Botucatu, however, the highest prevalence of MRSA is found in the northern region of the city. The analysis of the clonal profile leads to further discussions about the process of evolution of the bacteria, suggesting a probable common origin among the strains of different cities.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, people living with HIV/aids

## **Lista Tabelas**

Tabela 1. Oligonucleotídeos para a detecção dos genes 16S e SA442.....	12
Tabela 2. Oligonucleotídeos para a detecção do gene <i>mecA</i> .....	13
Tabela 3. Oligonucleotídeos para a detecção do SCC <i>mec</i> .....	14
Tabela 4. Oligonucleotídeos utilizados para a detecção de genes de virulência .....	15
Tabela 5. Sequência de <i>primers</i> utilizados na PCR.....	17
Tabela 6. Oligonucleotídeos utilizados para a detecção do gene <i>spa</i> .....	18

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução .....</b>	<b>05</b>
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>09</b>
2.1 Objetivo Geral .....	09
2.2 Objetivo Específico .....	09
<b>3. Materiais e Métodos .....</b>	<b>10</b>
<b>4. Referências .....</b>	<b>19</b>
<b>5. Apresentação da tese .....</b>	<b>23</b>
5.1 Artigo I .....	24
5.2 Artigo II .....	46
<b>6. Conclusão .....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXO I.....</b>	<b>64</b>
<b>ANEXO II.....</b>	<b>65</b>

## 1. Introdução

Poucos agravos à saúde, como a aids, acumularam, em tão pouco tempo, um grande número de estudos para compreender seu comportamento e determinantes, o que demonstra sua importância, já que afeta a qualidade de vida da população causando um grande impacto na economia, na sociedade e nas estruturas familiares.<sup>1,2</sup>

O Brasil foi um dos primeiros países, dentre os de baixa e média renda a fornecer tratamento gratuito, a partir de 1996, para pessoas que vivem com HIV/aids (PVHA) pelo Sistema Único de Saúde (SUS), levando a uma queda acentuada na taxa de mortalidade associada à aids.<sup>3</sup>

Atualmente, conta com uma das maiores coberturas de tratamento antirretroviral (TARV) entre os países de média e baixa renda e o sucesso do programa brasileiro de controle do HIV/aids é reconhecido mundialmente devido a sua abordagem que inclui a prevenção e o acesso universal e gratuito às drogas antirretrovirais. Em junho de 2017, 20,9 milhões tinham acesso à terapia antirretroviral.<sup>4,5</sup>

Estima-se que 36,7 milhões de pessoas em todo o mundo viviam com HIV em 2016, sendo que 1,8 milhão foram novas infecções pelo HIV ocorridas no ano de 2016. Além disso, 1 milhão de pessoas morreram em 2016 por causas relacionadas à aids.<sup>4</sup>

Pessoas colonizadas podem apresentar risco de infecção por *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) aumentado em PVHA, além de contribuírem para sua disseminação, embora a prevalência de colonização neste grupo ainda não esteja bem estabelecida.<sup>6</sup>

Segundo Hidron e colaboradores<sup>7</sup> a resposta imune inata em pessoas com HIV apresenta disfunção significativa de neutrófilos o que pode aumentar o risco de infecções bacterianas.

A neutropenia é uma consequência do HIV e se torna um fator de risco significativo para infecções bacterianas em PVHA, uma vez que neutrófilos são um componente crítico na imunidade inata e a primeira célula de defesa contra *S. aureus*.<sup>8,9</sup>

Estudos já demonstraram que a tipagem de *S. aureus* de sítios infectados foi na maioria das vezes a mesma cepa observada previamente na cultura das narinas, demonstrando que *S. aureus* nas narinas serve de reservatório para colonização em outros sítios.<sup>10</sup>

As razões para elevadas taxas de colonização são multifatoriais, mas provavelmente estão relacionadas ao estilo de vida, como atividades sexuais de alto



risco e uso de droga, além disso, disfunção do sistema imune e frequente exposição ao uso de antibióticos e hospitalizações.<sup>11</sup>

Estudos têm demonstrado que PVHA têm um risco aumentado para colonização por micro-organismos patogênicos, principalmente quando relacionado ao *S. aureus* e conseqüentemente a ocorrência de infecções, incluindo bacteremias, endocardites e infecções graves de pele devido aos fatores de virulência desse micro-organismo e pela sua resistência aos antibióticos.<sup>12,13</sup>

*S. aureus* é causa frequente de infecções na comunidade e no hospital, sua resistência a vários antibióticos dificulta o tratamento.<sup>14</sup> Destaca-se por sua patogenicidade e alta frequência, causando doenças tanto em indivíduos imunocomprometidos quanto em sadios por sua fácil disseminação e sua enorme capacidade de adaptação e resistência a antibióticos.<sup>15</sup>

A colonização assintomática por *S. aureus* tem grande importância clínica, uma vez que, com as narinas colonizadas, o indivíduo contamina as próprias mãos e passa a ser veículo de transferência da bactéria no mecanismo de infecção por contato.<sup>16</sup>

O principal nicho ecológico de *S. aureus* são as narinas, no entanto em muitos casos, a colonização não é restrita às narinas, pois estudos já demonstraram a importância da orofaringe como um local comum de colonização, com isso indivíduos podem ser colonizados exclusivamente na orofaringe e estes seriam perdidos em estudos de portadores com coletas limitadas às narinas.<sup>14,17</sup>

Segundo Reinato e colaboradores<sup>18</sup> para se pesquisar *S. aureus* e, especialmente, MRSA, um dos sítios de maior interesse é a mucosa nasal, pela própria característica de sua colonização natural.

Estudos realizados por Padoveze e colaboradores<sup>19</sup> sugerem que a aquisição da colonização nasal por MRSA está relacionada a hospitalização em unidade de doenças infecciosas e frequente assistência à saúde em ambulatórios de cuidados diários de pacientes com HIV/aids, demonstrando a necessidade de vigilância em ambulatórios, devido às possíveis implicações da disseminação de organismos resistentes, como MRSA.

Alguns estudos relatam a associação de baixos níveis de linfócitos TCD4<sup>+</sup> como outro fator de risco para infecção por MRSA, o que pode ser aumentado por imunodeficiência desempenhando um papel importante no aumento do risco para

infecções por MRSA e estabelecimento de maiores taxas de colonização entre esta população de pacientes.<sup>7,20,21</sup>

*S. aureus* produz algumas exotoxinas como a toxina 1 da Síndrome do Choque Tóxico (TSST-1), enterotoxinas estafilocócicas (SEs) e as toxinas esfoliativas (ETs). Todas essas toxinas são conhecidas como superantígenos por terem a capacidade de estimular a proliferação inespecífica de linfócitos T e produção exacerbada de citocinas, que são responsáveis pelas manifestações clínicas observadas nas infecções graves causadas por cepas toxigênicas.<sup>22</sup>

A leucocidina Pantone Valentine (PVL) é uma toxina formadora de poros codificada pelos genes *LukS-PV* e *lukF-PV* e que causam destruição de leucócitos e necrose do tecido. Cepas produtoras de PVL têm sido associadas com a formação de abscesso na pele, furunculose e casos graves de pneumonia necrotizante.<sup>23</sup>

As hemolisinas são citotoxinas secretadas por *S. aureus* que apresentam atividade hemolítica, ou seja, capacidade de formar poros na membrana de células do sistema imune, atividade dermonecrótica importante em infecções de pele e efeitos neurotóxicos.<sup>15</sup>

Além de expressar diversos fatores de virulência, *S. aureus* tem capacidade de formar biofilme na superfície de materiais estranhos ao organismo, como cateteres endovenosos e próteses, que protegem esses micro-organismos da ação de antibióticos e do sistema imunológico do hospedeiro dificultando o tratamento.<sup>24</sup>

Além da expressão dos fatores de virulência, a patogenicidade de *S. aureus* também se deve à ampla resistência antimicrobiana entre os isolados, fator que dificulta de forma considerável o tratamento das infecções em âmbito mundial.<sup>25</sup>

O gene *mecA* está localizado em um complexo genético móvel chamado *Staphylococcal Cassette Chromosome mec* (SCC*mec*). Até o momento, onze tipos de SCC*mec* têm sido descritos para *S. aureus*, utilizando a combinação de duas partes: o complexo *ccr* e o complexo *mec*, com três genes *ccr* filogeneticamente distintos classificados como: *ccrA*, *ccrB* e *ccrC*, além disso, há seis classes do complexo gene *mec* (classe A, B, C1, C2, D e classe E), sendo que na classe D não temos nenhum SCC*mec* descrito até o momento.<sup>26,27</sup>

Nas últimas décadas, uma variedade de técnicas moleculares baseadas no estudo da similaridade dos cromossomos foi desenvolvida, dentre elas se destacam o *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE), considerado padrão-ouro para a tipagem molecular; o

*Multilocus Sequence Typing* (MLST), que tem sido amplamente utilizado para caracterização molecular e investigação epidemiológica e o *spa Typing*.<sup>28,29,30</sup>

Estudos mostram que PFGE e *spa typing* possuem um alto poder discriminatório com uma concordância de 95,9% na classificação do tipo de isolado e ambos os métodos também mostram alta concordância com o MLST (95,5%). A técnica de *spa typing* e MLST compartilham as vantagens de resultados inequívocos que podem ser comparados entre laboratórios ao longo do tempo.<sup>31,32</sup>

As infecções por *S. aureus* entre a população em geral estão bem descritas, mas pouco se sabe sobre a incidência de colonização, infecção, persistência e transmissão intradomiciliar de MRSA e MSSA em PVHA, um agravo preocupante com grande impacto na saúde. Esse estudo se justifica pela perspectiva de que a partir dos resultados obtidos podem ser realizadas intervenções visando a redução do risco de adoecimento, bem como redução do risco de transmissão da bactéria entre PVHA, família e a equipe de assistência à saúde.

#### 4. Referências

1. Fonseca MG, Bastos FI. Twenty-five years of the AIDS epidemic in Brazil: principal epidemiological findings, 1980-2005. *Cad Saúde Pública*. 2007;23.
2. Grangeiro A, Escuder MM, Castilho EA. Magnitude and trend of the AIDS Epidemic in Brazilian cities, from 2002 to 2006. *Rev. Saúde Pública*. 2010, 44:430-40.
3. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. 2015. Brasília.
4. UNAIDS (*Joint United Nations Programme on HIV/AIDS*). Resumo informativo HIV/AIDS. 2017.
5. Greco DB, Simão M. Brazilian policy of universal access to AIDS treatment: sustainability challenges and perspectives. *AIDS*. 2007;21(4):37-45.
6. Okado JB, Bogni SC, Reinato LAF, Martinez R, Gir E, Camargo ILBC. Molecular analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* dissemination among healthcare professionals and/or HIV patients from a tertiary hospital. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2016;49(1):51-6.
7. Hidron AL, Kempker R, Moanna A, Rimland D. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *Infect Drug Resist*. 2010, 3:73–86.
8. DeLeo FR, Diep BA, Otto M. Host Defense and Pathogenesis in *Staphylococcus aureus* Infections. *Infect Dis Clin North Am*. 2009;23(1):17–34.
9. Kuritzkes DR. Neutropenia, Neutrophil Dysfunction, and Bacterial Infection in Patients with Human Immunodeficiency Virus Disease: The Role of Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Clin Infect Dis*. 2000, 30(2):256-70.
10. Nguyen MH, Kauffman CA, Goodman RP, Squier C, Arbeit RD, Singh N, Wagener MM e Yu VL. Nasal Carriage of and Infection with *Staphylococcus aureus* in HIV-Infected Patients. *Ann Intern Med*. 1999;130(3):221-5.
11. Shadyab AH, Crum-Cianflone NF. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections among HIV-infected persons in the era of highly active antiretroviral therapy: a review of the literature. *HIV Med*. 2012;13:319-32.
12. McDonald LC, Lauderdale TL, Lo HJ, Tsai JJ, Hung CC. Colonization of HIV-infected outpatients in Taiwan with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *Int J STD AIDS*. 2003, 14(7):473-7.
13. Imaz A, Pujol M, Barragán P, Domínguez MA, Tiraboschi JM, Podzamczer D. Community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV-infected patients. *AIDS Rev*. 2010; 12(3):153-63.
14. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis*. 2005; 5:751–62.

15. Otto, M. Basis of Virulence in Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Annu. Rev. Microbiol.* 2010;64:143–62.
16. Santos AL, Santos DO, Freitas CC, Ferreira BLA, Afonso IF, Rodrigues CR et al. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J. Bras. Patol. Med.* 2007;43(6):413-423.
17. Partida AH, Espunes TS, Martínez JB. Characterization and Persistence of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from the Anterior Nares and Throats of Healthy Carriers in a Mexican Community. *J. Clin. Microbiol.* 2010, 48(5):1701-5.
18. Reinato LAF, Pio DPM, Lopes LP, Pereira FMV, Lopes AER, Gir E. Colonização nasal por *Staphylococcus aureus* em indivíduos com HIV/Aids atendidos em um hospital-escola brasileiro. *Latino-Am. Enfermagem.* 2013;21(6):1235-9.
19. Padoveze MC, Tresoldi AT, Nowakowski AV, Aoki FH, Branchini ALM. Nasal MRSA Colonization of AIDS Patients Cared for in a Brazilian University Hospital. *ICHE.* 2001, 22(12): 783-5.
20. Crum-Cianflone N, Weekes J, Bavao M. Recurrent Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections among HIV-Infected Persons: Incidence and Risk Factors. *AIDS Patient Care STDS.* 2009; 23(7):499-502
21. Siberry GK, Frederick T, Emmanuel P, Paul ME, Bohannon B, Wheeling T et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Human Immunodeficiency Virus-Infected Children and Adolescents. *AIDS Res Treat.* 2012:1-7.
22. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Characterization of Virulence Factors of *Staphylococcus aureus*: Novel Function of Known Virulence Factors That Are Implicated in Activation of Airway Epithelial Proinflammatory Response. *J Pathog.* 2011:1-13.
23. Brown ML, O'Hara P, Close NM, Mera RM, Miller LA, Suaya JA et al. Prevalence and sequence variation of Pantón-Valentine Leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in the United States. *J Clin Microbiol.* 2012;50(1):86-90.
24. Szczuka E, Urbńska K, Pietryka M, Kaznowski A. Biofilm density and detection of biofilm-producing genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Folia Microbiol.* 2013; 1:1-6.
25. Li M, Du X, Villaruz AE, Diep BA, Wang D, Song Y, Tian Y, Hu J, Yu F, Lu Y, Otto M. MRSA epidemic linked to a quickly spreading colonization and virulence determinant. *Nature Medicine.* 2012, 18(5):816-20.
26. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassete Chromosome Elements (IWG-SCC). Disponível em [http://www.sccmec.org/Pages/SCC\\_HomeEN.html](http://www.sccmec.org/Pages/SCC_HomeEN.html). 2013

27. Monecke S, Coombs G, Shore AC, Coleman DC, Akpaka P, Borg M et al. A Field Guide to Pandemic, Epidemic and Sporadic Clones of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS ONE. 2011;6(4):1793-6.
28. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: Establishing a National Database. J Clin Microbiol. 2003; 41(11):5113-20
29. Shopsin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. J Clin Microbiol. 1999;37(11):3556-63
30. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2000;38(3):1008-15.
31. Hallin M, Deplano A, Denis O, Mendonça R, Ryck R e Struelens MJ. Validation of *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* and *spa Typing* for long-term, nationwide epidemiological surveillance studies of *Staphylococcus aureus* infections. J Clin Microbiol. 2007;45(1):127–33.
32. Hara FP, Suaya JA, Ray GT, Baxter R, Brown ML, Mera RM, Close NM, Thomas E e Amrine-Madsen H. *Spa typing* and multilocus sequence typing show comparable performance in a macroepidemiologic study of *Staphylococcus aureus* in the United States. Microb Drug Resist. 2016; 22(1): 88–96.
33. Konemann EW, Allen SD, Dowell VR, Sommer HM. Introdução à microbiologia médica. In: Diagnóstico microbiológico: texto e Atlas colorido. 5th ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
34. Cunha MLS, Sinzato YK, Silveira LV. Comparison of methods for the identification of coagulase-negative staphylococci. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99(8):855-60.
35. Mason WJ, Blevins JS, Beenken K, Wibowo N, Ojha N, Smeltzer MS. Multiplex PCR protocol for the diagnosis of Staphylococcal infection. J Clin Microbiol. 2001; 39(9):3332-8.
36. Martineau F, Picard FJ, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 1998; 36(3): 618–23.
37. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement (M100-S22), 2012.
38. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement (M100-

S25), 2015.

39. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1991;29(10):2240-4.
40. Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(7):2155-61.
41. Milheiriço C, Oliveira DC, de Lencastre H. Update to the multiplex PCR strategy for assignment of *mec* element types in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(9):3374-7.
42. Marconi C, Cunha MLRS, Araújo JP, Rugolo LMSS. Standardization of the PCR technique for the detection of delta toxin in *Staphylococcus* spp. *J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.* 2004;11(2):117-128.
43. Cunha MLRS, Peresi E, Calsolari RA, Araújo JP. Detection of Enterotoxins genes in coagulase-negative Staphylococci isolated from foods. *Braz J Micr.* 2006; 37: 64-69.
44. Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, Ashton FE, Pollard DR, Rozee KR. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1991;29(3):426-30.
45. Tristan A, Bes M, Meugnier H, Lina G, Bozdogan B, Courvalin P, et al. Global distribution of Pantone-Valentine leukocidin--positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(4):594-600.
46. Koning S, van Belkum A, Sniijders S, van Leeuwen W, Verbrugh H, Nouwen J, et al. Severity of nonbullous *Staphylococcus aureus* impetigo in children is associated with strains harboring genetic markers for exfoliative toxin B, Pantone-Valentine leukocidin, and the multidrug resistance plasmid pSK41. *J Clin Microbiol.* 2003;41(7):3017-21.
47. Arciola CR, Baldassarri L, Montanaro L. Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. *J Clin Microbiol.* 2001;39(6):2151-6.

## Referências

1. Tong, AYC; Davis, JS; Eichenberger, E; Holland, TL; Fowler VG. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*. 28(3): 603-661, 2015.
2. Ferreira, DC; Silva, GR; Cavalcante, FS; Carmo, FL; Fernandes, LA; Moreira,S; Passos, MRL; Colombo, APV; Santos, KRN. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in HIV patients: Risk factors associated with colonization and/or infection and methods for characterization of isolates - a systematic review. *Clinics*. 69(10):770-776, 2014.
3. Olalekan, AO; Schaumburg, F; Nurjadi, D; Dike, AE; Ojurongbe, O; Kolawole, DO; Kun, JF; Zanger, P. Clonal expansion accounts dor na excess of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* colonizing HIV-positive individuals in Lagos, Nigeria. *Antimicrob Agents*. 40(3):268-272, 2012.
4. Von Eiff, C; Becker, K; Machka, K; Stammer, H; Peters, G. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *N Engl J Med*. 344(1): 11-16, 2001.
5. Malachowa N, Kobayashi SD, DeLeo F. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and athletes. *Physician Sports med*. 2012; 40(2):1-8.
6. Ministério da Saúde. Capacitação e atualização do geoprocessamento em saúde. Brasília, 2006.
7. Konemann EW, Allen SD, Dowell VR, Sommer HM. Introdução à microbiologia médica. In: Diagnóstico microbiológico: texto e Atlas colorido. 5th ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2001.
8. Cunha MLS, Sinzato YK, Silveira LV. Comparison of methods for the identification of coagulase-negative staphylococci. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(8):855-60.
9. Mason WJ, Blevins JS, Beenken K, Wibowo N, Ojha N, Smeltzer MS. Multiplex PCR protocol for the diagnosis of Staphylococcal infection. *J Clin Microbiol*. 2001; 39(9):3332-8.
10. Martineau F, Picard FJ, Roy PH, Ouellette M, Bergeron MG. Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 1998;36(3):618-23.
11. Murakami K, Minamide W, Wada K, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1991;29(10):2240-4.
12. Cunha MLRS, Peresi E, Calsolari RA, Araújo JP. Detection of Enterotoxins genes in coagulase-negative Staphylococci isolated from foods. *Braz J Micr*. 2006; 37: 64-69.
13. Johnson WM, Tyler SD, Ewan EP, Ashton FE, Pollard DR, Rozee KR. Detection of



genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1991;29(3):426-30.

14. Marconi C, Cunha MLRS, Araújo JP, Rugolo LMSS. Standardization of the PCR technique for the detection of delta toxin in *Staphylococcus* spp. J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis. 2004;11(2):117-128.

15. Tristan A, Bes M, Meugnier H, Lina G, Bozdogan B, Courvalin P, et al. Global distribution of Pantone-Valentine leukocidin--positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. Emerg Infect Dis. 2007;13(4):594-600.

16. Koning S, van Belkum A, Snijders S, van Leeuwen W, Verbrugh H, Nouwen J, et al. Severity of nonbullous *Staphylococcus aureus* impetigo in children is associated with strains harboring genetic markers for exfoliative toxin B, Pantone-Valentine leukocidin, and the multidrug resistance plasmid pSK41. J Clin Microbiol. 2003;41(7):3017-21.

17. Arciola CR, Baldassarri L, Montanaro L. Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. J Clin Microbiol. 2001;39(6):2151-6.

18. McDougal LK, Steward CD, Killgore GE, Chaitram JM, McAllister SK, Tenover FC. Pulsed-field gel electrophoresis typing of Oxacillin-Resistant *Staphylococcus aureus* isolates from the United States: Establishing a National Database. J Clin Microbiol. 2003; 41(11):5113-20

19. Enright MC, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2000;38(3):1008-15.

20. Nardi, SMT; Paschoal, JAA; Perdo, HSP; Paschoal VA; Sichieri, EP. Geoprocessamento em saúde pública: fundamentos e aplicações. Rev Inst Adolfo Lutz. 2013; 72(3):185-91

21. Oliveira, A; Pereira, VC; Pinheiro, L; Riboli, DFM ; Martins, KB; cunha, MLRS. Antimicrobial Resistance Profile of Planktonic and Biofilm Cells of *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci. Int. J. Mol. Sci. 17: 1423, 2016.

22. Souza, CSM; Fortaleza, CMCB; Witzel, CL, Silveira, M; Bonesso, MF; Marques, SA; Cunha, MLRS. Toxigenic profile of methicillin-sensitive and resistant *Staphylococcus aureus* isolated from special groups. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 15(9): 1-5,2016.

23. Camargo, CH; Cunha, MLRS; Bonesso, MF; Cunha, FP; Barbosa, NA; Fortaleza, CMCB. Systemic CA-MRSA infection following trauma during soccer match in inner Brazil: clinical and molecular characterization. Diagn Microbiol Infect Dis. 76(3): 372-4, 2013

24. Blomqvist, S; Leonhardt, A; Arirachakaran, P; Carlen, A; Dahle, G. Phenotype, genotype, and antibiotic susceptibility of Swedish and Thai oral isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Oral Microbiol.* 23(7):1-7, 2015.
25. Alfatemi, SMH; Motamedifar, M; Hadi, N; Saraie, SE. Analysis of virulence genes among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains. *Jundishapur J Microbiol.* 7(6): e10741, 2014.
26. Vyas, K; Hospenthal, DR; Mende, K; Crum-Cianflone, NF. Recurrent Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in an HIV-Infected Person. *J Clin Microbiol.* 49(5): 2047–2053, 2011.
27. Imaz, A; Camoez, M; Di Yacovo S; Gasch, O; Domingez, MA; Vila, A; Maso-Serra, M; Pujol, M; Podzamczar, D. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in HIV-infected patients in Barcelona, Spain: a cross-sectional study. *BMC Infect Dis.* 15(243): 1-5,2015.
28. Bonesso, MF; Marques, AS; Camargo, CH, Fortaleza, CMCB; Cunha, MLRS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in non-outbreak skin infections. *BJM.* 45: 1401-1407, 2014.

## 6. Conclusões

- Taxa de colonização nasal de *S. aureus* maior quando comparada a oral em PVHA;
- Similaridade entre isolados de *S. aureus* provenientes dos diferentes sítios de coleta (nasal e oral);
- Relação clonal entre *S. aureus* isolados de PVHA e de seus contactantes demonstrando uma possível disseminação intradomiciliar;
- Não houve diferença significativa quanto à presença dos genes que codificam fatores de virulência em *S. aureus* isolados de PVHA e de seus contactantes domiciliares e nem entre MRSA e MSSA, ressaltando a importância do MSSA que também pode carrear genes que codificam fatores de virulência importantes;
- Alta densidade de *S. aureus* em uma determinada região não significa presença de maior número de isolados resistentes;
- Foram encontrados MRSA de PVHA e de seus contactantes que agruparam com importantes clones internacionais, como USA 800 e OSPC;
- MSSA que agruparam em um único *cluster* com características moleculares compatíveis com o clone ST398, revela a importância desse grupo.